



# **TRABALHO FINAL**

## **MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA**

---

Clínica Universitária de Otorrinolaringologia

### **Otite Média Eosinofílica: Uma nova realidade?**

Susana Sofia Amaral Lemos Ferreira

---

**Maio'2018**



# **TRABALHO FINAL**

## **MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA**

---

Clínica Universitária de Otorrinolaringologia

### **Otite Média Eosinofílica: Uma nova realidade?**

Susana Sofia Amaral Lemos Ferreira

**Orientado por:**

Dr. <sup>o</sup> Marco Simão

---

**Maio'2018**

## Resumo

A otite média eosinofílica é uma entidade recentemente reconhecida, que se caracteriza pela acumulação de eosinófilos no ouvido médio e pela presença de derrame muito viscoso. Trata-se de uma doença crónica intratável frequentemente bilateral, que surge habitualmente em adultos com idade média de 50 anos, com antecedentes de asma brônquica e/ou pólipos nasais. A surdez pode surgir súbita ou gradualmente durante a progressão da doença, o que torna importante o diagnóstico adequado e precoce desta patologia. O mecanismo específico que leva à acumulação de eosinófilos ainda não é bem conhecido, mas considera-se que haja uma disfunção da trompa de Eustáquio que facilita a invasão/contaminação por agentes estranhos. Tal pode, em doentes com predisposição alérgica, contribuir para o desenvolvimento e/ou agravamento de inflamação crónica eosinofílica. A acumulação de eosinófilos é toxina para a mucosa do ouvido médio e o dano surge como resultado da activação de um processo de morte celular conhecido por *ETosis*. Várias citocinas e quimiocinas já foram identificadas como sendo participantes neste processo, mas é necessária mais investigação para compreender melhor a fisiopatologia desta doença.

Aquando do diagnóstico da otite média eosinofílica é fundamental excluir outras patologias como a poliangéite granulomatosa eosinofílica. O tratamento desta doença baseia-se no uso de corticóides tópicos e, por vezes, sistémicos, bem como na optimização do tratamento da asma, nomeadamente com recurso a fármacos como o omalizumab. No futuro poderão surgir alternativas terapêuticas dirigidas ao mecanismo patológico desta doença.

Palavras-chave: otite média eosinofílica, asma brônquica, derrame ouvido médio, pólipos nasais, eosinófilos.

O trabalho final exprime a opinião do autor e não da FML

## **Abstract**

Eosinophilic otitis media is a recently recognized disease characterized by the accumulation of eosinophils in the middle ear and by the presence of very viscous effusion. It is a chronic, often bilateral, intractable disease that usually occurs in adults with a mean age of 50 years with a history of bronchial asthma and / or nasal polyps. Deafness may appear suddenly or gradually during disease progression, which makes early and appropriate diagnosis of this condition important. The specific mechanism leading to the accumulation of eosinophils is not yet well known, but Eustachian tube dysfunction is thought to facilitate invasion / contamination by foreign agents. In patients with allergic predisposition this may lead to the development of chronic eosinophilic inflammation. Eosinophil accumulation is toxic to the middle ear mucosa and the damage arises because of the activation of a cell death process known as ETosis. Several cytokines and chemokines have been identified as being participants in this process, but more research is needed to better understand the pathophysiology of this disease.

In the diagnosis of eosinophilic otitis media, it is essential to exclude other pathologies such as eosinophilic granulomatous polyangiitis. The treatment of this disease is based on topical and sometimes systemic corticosteroids and on optimizing of asthma treatment with the use of drugs such as omalizumab. In the future, novel target treatment may appear to address the pathological mechanism of this disease.

**Keywords:** eosinophilic otitis media, bronchial asthma, middle ear effusion, nasal polyps, eosinophils.

O trabalho final exprime a opinião do autor e não da FML

## Índice

Resumo .....	1
Abstract.....	2
Introdução .....	4
Otite Média Eosinofílica - O que é? .....	5
Otite Média Eosinofílica e Surdez.....	7
Fisiopatologia .....	10
Diagnóstico diferencial.....	16
Exames complementares de diagnóstico .....	18
Tratamento.....	19
Discussão e Conclusão .....	24
Agradecimentos .....	26
Bibliografia.....	27

## Introdução

O presente trabalho tem como principal objectivo aprofundar o conhecimento de uma entidade clínica recentemente reconhecida que afecta o ouvido médio, a otite média eosinofílica. Esta encontra-se intimamente relacionada com a acção crónica dos eosinófilos, células efectoras do sistema imunitário que desempenham um papel importante na defesa do organismo contra as infecções, particularmente parasitas, e também na doença alérgica.

A inflamação eosinofílica já foi reconhecida como fazendo parte da patogénese de várias doenças, inclusive do foro da otorrinolaringologia, como a asma brônquica, a rinite alérgica, a sinusite fúngica alérgica, a polipose nasal eosinofílica dominante e a rinossinusite eosinofílica mucínica, entre outras.

A relação entre eosinófilos e existência de um processo crónico de otite média já terá sido descrita, em 1947, por H. Koch na sua obra de *Allergical investigations of chronic otitis*. Este autor relacionou a elevada incidência de patologia alérgica nasal com a existência de um processo inflamatório crónico no ouvido médio caracterizado por uma otorreia viscosa, rica em eosinófilos e com sinais inflamatórios na mucosa do ouvido médio. Mais recentemente, em 1993, Tomioka e os seus colaboradores reportaram a existência de casos intratáveis de otite média com características semelhantes aos encontrados por Koch e, concomitantemente, com asma brônquica. A investigação recentemente desenvolvida, sobretudo no Japão, levou ao reconhecimento desta patologia e ao estabelecimento de critérios de diagnóstico. Porém persiste algum desconhecimento sobre os mecanismos fisiopatológicos subjacentes. Para além disso, a cronicidade e, em certa medida a intratabilidade, colocam vários desafios no controlo desta doença, com consequências na qualidade de vida destes doentes.

Deste modo, este trabalho procura esclarecer de que se trata esta doença, como é diagnosticada, qual é a sua fisiopatologia, consequências e tratamento.

## **Otite Média Eosinofílica - O que é?**

A otite média eosinofílica (OME) trata-se de uma entidade clínica recentemente reconhecida que afeta o ouvido médio. É característico desta entidade a acumulação de eosinófilos e, consequentemente, a presença de derrame muito viscoso no ouvido médio, sendo que um dos sintomas mais característicos é a presença de otorreia bilateral intratável. A inflamação afeta a mucosa do ouvido médio, que se encontra em continuidade com o restante trato respiratório. Uma das consequências potencialmente grave desta patologia é a perda auditiva, súbita ou gradual, pelo que é importante realizar o diagnóstico o mais precocemente possível. (1)

Desde Koch, que provavelmente realizou a primeira descrição de OME, vários autores propuseram a existência de uma doença inflamatória que afectaria o ouvido médio e que estaria relacionada com a presença concomitante de patologia alérgica, como Shambaugh e os seus colaboradores (1967), que a designaram por otite media alérgica. Anteriormente Derlacki, em 1952, também havia descrito uma relação entre a inflamação nasal, brônquica e a do ouvido médio. (1, 2)

Recentemente, vários autores debruçaram-se sobre esta doença e tentaram propor critérios de diagnóstico para a mesma. Num estudo realizado por Lino e seus colaboradores (1) foram comparados dois grupos de doentes, um grupo com OME (com derrame rico em eosinófilos) e o outro com otite crónica ou com derrame (sem as características típicas da OME). Cada grupo contava com aproximadamente 140 doentes, sendo que o grupo de doentes diagnosticados com OME era composto por 86 mulheres e 52 homens, com idades compreendidas entre os 18 e os 77 anos, com uma média de idades de  $51,6 \pm 13,7$ . Para a identificação de eosinófilos foram realizados estudos histológicos e citológicos. Tratou-se de um estudo retrospectivo e multicêntrico que envolveu 5 centros de referência no Japão. (1)

Deste trabalho concluiu-se existir uma forte relação entre a OME com: a asma brônquica, a resistência ao tratamento convencional da otite média (sistémico e tópico com antibióticos, timpanoplastia e outros tratamentos cirúrgicos), a existência de derrame no ouvido médio, a existência concomitante de pólipos nasais, a presença de rinosinusite crónica, a afecção bilateral de ambos os ouvidos e a formação de tecido de granulação (1). O grupo de doentes com OME apresentava, em cerca de 98,55% dos casos, duas ou

mais das quatro primeiras características anteriormente mencionadas (asma, resistência ao tratamento convencional, derrame e pólipos nasais) (1). Novos estudos corroboraram a associação entre OME e asma, verificando-se que cerca de 90% dos doentes com OME têm asma, e 10% dos doentes com asma têm OME (3).

Verificou-se ainda que a contagem de eosinófilos séricos e a de IgE total se encontram mais elevadas que o normal nos doentes com OME. Esse aumento também foi identificado a nível local no ouvido médio, sendo que habitualmente existia uma maior concentração de eosinófilos no derrame do que na mucosa do ouvido médio. (1,5)

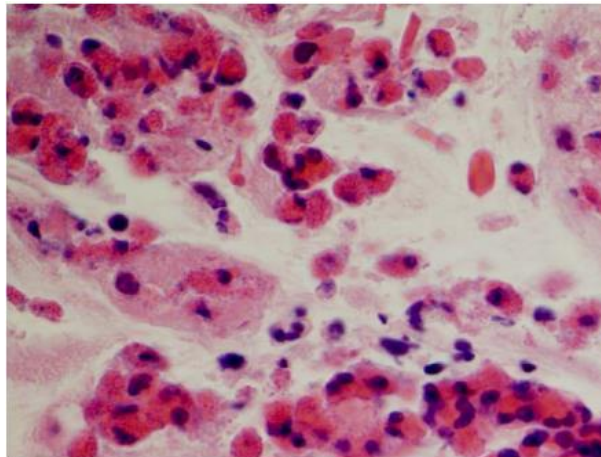


Figura 1 - Avaliação histológica do derrame do ouvido médio num doente com OME, que mostra acumulação de eosinófilos (1).

Assim, surgiram como critérios de diagnóstico de OME: a presença de derrame no ouvido médio com presença dominante de eosinófilos (critério *major*) e a presença de dois ou mais critérios (*minor*), nomeadamente asma brônquica, a resistência ao tratamento convencional da otite média, a existência de derrame no ouvido médio e pólipos nasais (1). Constatou-se que, geralmente, a OME surge por volta dos 50 anos, em adultos já anteriormente diagnosticados com asma brônquica, sendo o rácio género feminino/masculino de 2:1 (1, 4).

Relativamente à asma brônquica na OME, observou-se uma associação entre o aparecimento da asma já enquanto adulto e a intolerância à aspirina, não sendo obrigatória a associação da asma com a atopia (1). A duração da asma (desde o seu diagnóstico inicial até ao desenvolvimento de OME) pode também estar associada a uma maior gravidade da OME (5, 6, 7), sendo que a OME surge habitualmente 10 anos após o desenvolvimento de asma brônquica (5).

Foram ainda identificadas outras relações entre a OME e a asma. A obesidade pode estar associada a casos de asma mais graves, na medida em que há um aumento do número de macrófagos residentes no tecido adiposo, assim como um aumento na segregação de citocinas e adipocinas (como a leptina e a adiponectina) que actuam directamente na



inflamação das vias aéreas (5). Esta relação entre a gravidade da asma e a obesidade também pode ser observada na OME, sendo que a obesidade também pode estar associada a casos mais graves de OME (5, 6).

Adicionalmente, Kanazawa e os seus colaboradores propuseram 5 variáveis para avaliar a gravidade da OME: a quantidade de otorreia, a condição/estado do ouvido médio, a frequência de injecções intra-timpânicas necessárias de corticóides tópicos, a frequência de administração de corticóides sistémicos e de antibióticos (5, 6). Consequentemente classificaram a OME em 3 graus. No grau 1 há derrame com presença de sinais de otite média crónica, mas a mucosa do ouvido médio é normal e ainda não se encontra espessada. No grau 2 já se observa espessamento, mas limitado ao tímpano. No grau 3, a mucosa encontra-se espessada ou edemaciada para além do tímpano até ao canal auditivo externo com presença de tecido de granulação. O grau 3 está associado aos casos mais graves, com maior quantidade de otorreia, de mais difícil controlo terapêutico e com maior frequência de administração de corticóides (tópicos e sistémicos) e antibioterapia. (5,6)

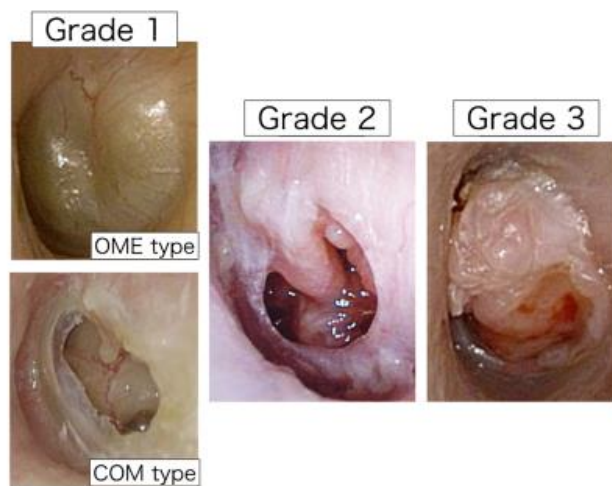


Figura 2 – Graus de afecção do ouvido médio na OME [na legenda *OME type* mostra derrame e *COM type* mostra sinais de otite média crónica]. (6)

Constataram ainda que a aplicação destes critérios de gravidade correlacionava-se com a concentração tópica de IgE, o que pode ser útil para avaliar a eficácia do tratamento aplicado, e a duração da asma (5, 6).

### Otite Média Eosinofílica e Surdez

Os doentes com OME têm um risco elevado de perda auditiva, mesmo nas fases iniciais da doença. Isto pode acontecer súbita ou gradualmente durante o curso da doença (1, 7,

8). A perda auditiva afecta 50% dos doentes com OME e 6% ficam completamente surdos (4).

O mecanismo que leva à surdez não se encontra totalmente esclarecido, mas considera-se que a inflamação eosinofílica afecta directamente o ouvido médio e as suas estruturas, levando a alterações da condução óssea. A inflamação crónica pode também afectar a cóclea, a *scala tympani* do Orgão de Corti e os capilares da *stria vascularis*, com o infiltrado eosinofílico a produzir alterações da condução sensorial (8).

A comparação de doentes com OME e asma brônquica com doentes com otite média crónica submetidos a timpanoplastia, contribui para esclarecer o impacto que a inflamação eosinofílica crónica tem na perda auditiva (9). Para tal, os limiares de audição da condução aérea a 250, 500, 1,000, 2,000 e 4,000 Hz foram comparados entre os dois grupos de doentes. A perda auditiva foi considerada quando se constatou limiar de condução óssea (BCHL) abaixo 30 dB para pelo menos uma frequência de 250-4000 Hz (1).

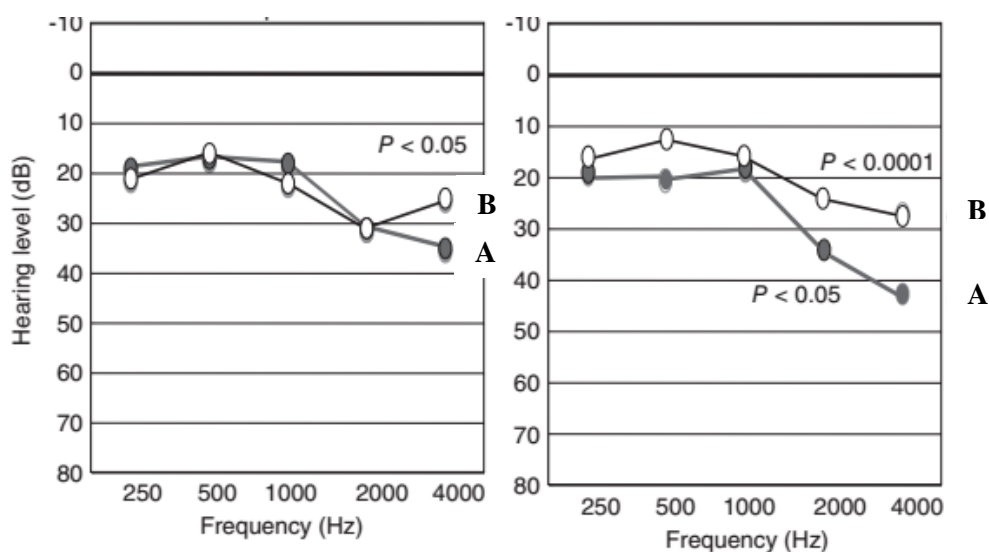


Figura 3 - Limiar de condução óssea em doentes com OME (A) em comparação com doentes com otite média crónica (B). (16)

De um total de 38 doentes com OME, verificou-se que 2 doentes ficaram subitamente com surdez profunda unilateral da doença. Um achado frequente foi a perda auditiva para sons de tonalidade aguda. A idade, o género masculino, a presença concomitante de agentes patogénicos (como bactérias, que podem danificar o ouvido interno) e a presença de outras alterações na mucosa do ouvido médio foram considerados factores de risco para o desenvolvimento da deterioração auditiva (9).

Para estabelecer a relação entre a inflamação crónica e a perda auditiva, foi analisado o derrame presente no ouvido médio, em especial as concentrações de proteína catiónica eosinofílica e de IgE. Foi estabelecida uma correlação entre a perda auditiva e a concentração da IgE e da proteína catiónica. A concentração de IgE tem uma correlação positiva e significativa com limiares de condução óssea a 2 e 4 kHz, pelo que os níveis séricos de IgE foram considerados como um bom indicador da alteração do limiar de condução óssea (10). De igual modo, a elevada concentração de proteína catiónica foi associada a uma deterioração dos limiares de condução óssea de 4 kHz. Ambas estão associadas à deterioração auditiva óssea, especialmente em tons agudos (10). Consequentemente, níveis séricos elevados de IgE foram adicionados aos factores de risco já mencionados (9, 10). A duração da otite eosinofílica e a gravidade das alterações inflamatórias no ouvido médio foram também considerados factores de risco para a perda auditiva (10). Deste modo deve ser dada atenção à avaliação da audição nestes doentes e, em particular, nos que apresentam factores de risco.

Na aferição da audição na OME foi igualmente importante a avaliação do funcionamento da Trompa de Eustáquio, através de sonotubometria.

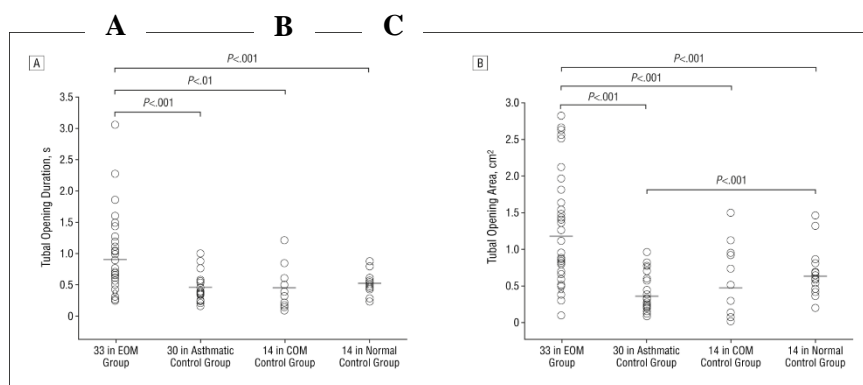


Figura 4 - Funcionamento da Trompa de Eustáquio avaliado por sonotubometria em doentes com OME (A), doentes com otite média crónica (B) e com grupo saudável de controlo (C). (16)

Verificou-se que os doentes com OME apresentavam uma maior duração de abertura da Trompa de Eustáquio e alguns mostravam um padrão de Trompa de Eustáquio patente, com encerramento incompleto/insuficiente através da deglutição voluntária (7,11). Por oposição, a maioria dos indivíduos saudáveis (89.8%) mostravam uma abertura e encerramento adequado da Trompa de Eustáquio com a deglutição voluntária.

Habitualmente, uma diminuição da amplitude ou amplitude negativa estão associadas a estenose da trompa (11).

Frequentemente, uma Trompa de Eustáquio patente resulta de uma perda de fluídos e tecido adiposo, que pode ocorrer secundariamente a perda de peso, uso de contraceptivos orais, gravidez, entre outros. No contexto de OME, a inflamação crónica das vias respiratórias (e do ouvido médio) podem levar ao desenvolvimento de fibrose da mucosa da Trompa de Eustáquio e assim justificar esta alteração (11).

Actualmente propõe-se que a entrada de material antigénico como bactérias, vírus e fungos no ouvido médio pode ser facilitada pela Trompa de Eustáquio patente e, assim, contribuir no processo inflamatório na OME (2, 6, 7, 11). Foram mesmos identificados antígenos específicos e IgEs contra alguns tipos de fungos, assim com citocinas segregadas em resposta a *Aspergillus*, *Alternaria* e *Candida*. Também foram encontradas enterotoxinas e vários agentes patogénicos, sendo mais frequentemente identificada a bactéria *Staphylococcus aureus* (5, 7). Tal sugere que existe uma relação sinérgica que entre respostas imunológicas adquiridas e inata na patologia da OME (5, 7). Todavia são necessários mais estudos para esclarecer de que modo as alterações da Trompa de Eustáquio podem contribuir para o desenvolvimento e/ou agravamento da OME (2, 11).

### **Otite Eosinofílica – Fisiopatologia**

A inflamação das vias aéreas superiores inclui a otite média, rinite, rinossinusite, amigdalite e faringo-laringite. A continuidade entre o trato respiratório superior e inferior traduz-se na partilha de estruturas comuns e, também, de características histológicas e respostas imunológicas. O envolvimento de citocinas Th2, IL-5, IL-13, IL-31, eotaxinas (subfamília de proteínas quimiotáticas dos eosinófilos) e leucotrienos é comum no trato respiratório e traduz-se em alterações inflamatórias que podem levar a espessamento da membrana basal e hiperplasia das células de caliciformes, com consequências patológicas (12). Já no que diz respeito às diferenças, estas traduzem as particularidades anatómicas das estruturas existentes. A mucosa nasal, porta de entrada para as vias aéreas superiores e inferiores, é muito vascularizada pelo que a vasodilatação será a principal responsável

pela obstrução a esse nível. Nos brônquios predominam as células musculares lisas, logo a obstrução decorre da constrição das mesmas.

A OME é considerada uma inflamação grave e refractária ao tratamento, sendo característico a formação de tecido de granulação resistente ao tratamento. Como foi referido, acredita-se que a disfunção da Trompa de Eustáquio em íntima relação com a obstrução das vias respiratórias, associada a invasão/contaminação por agentes estranhos pode, em doentes com predisposição alérgica, contribuir para o desenvolvimento inflamatório eosinofílico que leva ao aparecimento da OME (2).

Considera-se que existam várias células participantes na resposta inflamatória que contribuam para o processo fisiopatológico que resulta nas alterações observadas na OME, mas mecanismo específico que leva à acumulação de eosinófilos quer na mucosa que no derrame não é conhecido. Assim, são necessárias mais investigações nesta área, sendo que a evidência actual destaca o papel fundamental da inflamação activa por eosinófilos. (1, 5, 11)

Ao analisar o derrame e a mucosa de doentes com OME foram identificadas várias citocinas associadas a respostas Th1 e Th2, ambas envolvidas enquanto mecanismo efector (13). Verificou-se a presença e a expressão de citocinas e agentes quimiotáxicos participantes na activação e acumulação de eosinófilos como a IL-5 e o eotaxina, RANTES. Também foram identificadas a IL-4 e IL-1, IL-2, MIP-1 $\alpha$ , G-CSF, IL-1ra, IFN $\gamma$ , IL-13 e IgE. (1, 5, 13, 14, 15).

Relativamente às citocinas e quimiocinas envolvidas destaca-se a elevada concentração de IL-5 e de eotaxina (8, 13, 16). A IL-5 é uma quimiocina que medeia a migração de eosinófilos, activa-os, estimula a sua diferenciação e aumenta a sua sobrevivência, desempenhando um papel importante no recrutamento de eosinófilos. Portanto, é considerada a principal citocina que modela a função dos eosinófilos e a mais envolvida no processo patológico da OME (8, 13, 16). Em sinergia com a eotaxina (CCL11), a IL-5 contribui para a acumulação de eosinófilos nos tecidos (16). Similarmente, a IL-5 e a eotaxina também desempenham um papel importante na acumulação de eosinófilos nos pólipos nasais (8). A quimiocina RANTES (*regulated upon activation, normal T cell-expressed and -secreted*) é activadora de células T de memória e eosinófilos, enquanto

células efectoras na resposta alérgica (17). A MIP-1 $\alpha$  encontra-se também envolvida na resposta inflamatória após exposição a alérgeno, no contexto de asma brônquica, sendo um mediador em processos inflamatórios com predomínio de eosinófilos (8). Outro dos marcadores deste processo de inflamação eosinofílica activa é a proteína catiónica eosinofílica, que é uma proteína citoplasmática derivada dos eosinófilos, frequentemente aumentada na OME (16).

Para além disso, o periósteo também participa na fisiopatologia da OME. Este consiste numa proteína da matriz extracelular segregada em resposta à acção dos fibroblastos e de citocinas (IL-4 e IL-13). Apesar de inicialmente ter sido identificado como parte de uma linha celular de osteoblastos, vários autores sugerem a importância desta estrutura no desenvolvimento de patologia noutros órgãos (8, 18). Quando surge associado a patologia (como no caso da asma brônquica) habitualmente a sua expressão nos tecidos encontra-se aumentada e/ou desregulada, associada a processos de resposta inflamatória de células Th2, fibroesclerose, angiogénese e *remodelling* (18). Na patologia alérgica, intervém na regulação da homeostase das células caliciformes e contribui para o desenvolvimento de metaplasia (18).

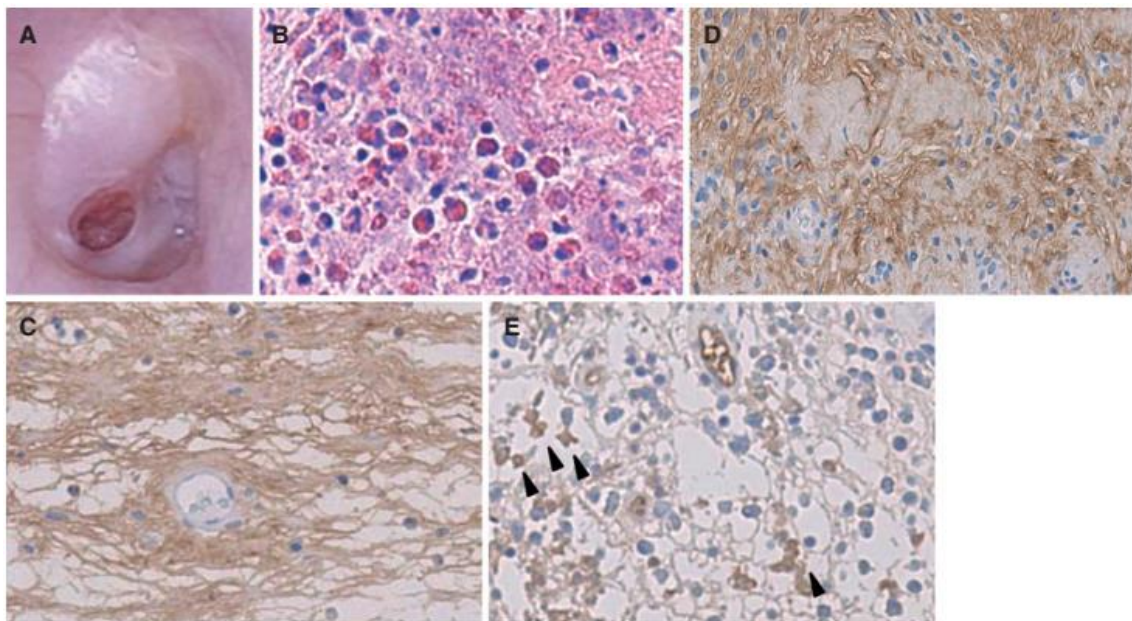


Figura 5 - A imagem A é de um doente com OME e asma e mostra edema e perfuração da membrana do tímpano, com presença de tecido de granulação. A imagem B mostra a marcada infiltração eosinofílica num doente com EOM e asma. A imagem C mostra a expressão do periósteo num doente com EOM. A imagem E mostra a marcação de células IL-13 positiva (setas) num doente com OME e asma. (18)



Na patologia do âmbito da otorrinolaringologia, o perióstio surge associado a doenças como a rinite alérgica, a rinossinusite, os pólipos nasais, a asma induzida pela aspirina e a OME (18). Nesta última, estudos realizados a partir de amostras de doentes com OME e modelos animais sugerem que desempenha um papel relevante no desenvolvimento de fibrose subepitelial no ouvido médio (8, 18).

Relativamente à identificação de IgE, esta ocorreu sobretudo ao nível da superfície das células mastóides e no interior dos plasmócitos, o que é a favor da hipótese de que a produção de IgE ocorra predominantemente a nível local, no ouvido médio, e em menor grau com origem sérica (6). Verificou-se também um aumento mais acentuado no derrame do que na mucosa do ouvido médio (16). Contrariamente, e por comparação, nos pólipos nasais e na rinossinusite crónica eosinofílica, os eosinófilos acumulam-se em grande quantidade na submucosa. Tudo isto parece apoiar a hipótese de que a produção de IgE ocorre principalmente no ouvido médio, com a participação dos eosinófilos (16). A produção excessiva de IgE não só desempenha um papel no processo patológico desta doença como encontra-se directamente relacionada com a perda auditiva que a caracteriza (16).

Na OME, a avaliação das amostras histológicas obtidas em doentes permitiu observar a presença de um elevado número de eosinófilos, a maioria destes desgranulados e alguns com citólise (com o núcleo a ser exteriorizado das células e componente mucoso) (16). A presença de elevado número de eosinófilos pode ser considerada tóxica, pois ao libertarem as proteínas contidas nos seus grânulos podem causar dano epitelial e diminuir o transporte de muco na Trompa de Eustáquio (16). Este processo de desgranulação é mediado por mecanismos relacionados com exocitose ou citólise, sendo este último também relevante na patologia alérgica e, neste contexto, na OME (19).

Os eosinófilos têm cerca de 200 grânulos por célula, os quais contêm várias proteínas (neurotoxina derivada dos eosinófilos, proteína catiónica eosinofílica, MBP, a peroxidase eosinofílica, entre outras) que podem causar dano por acção tóxica directa, como também por disrupção da barreira fosfolipídica, actividade das RNases, propriedades neurotóxicas e produção de radicais livres e espécies reactivas de oxigénio. (15)

Neste contexto, os eosinófilos sofrem um processo de morte celular que não é nem por apoptose, nem por necrose, o qual contribuirá para agravar o dano tecidual e incrementar a viscosidade do derrame na OME (15, 19).

A formação de armadilhas extracelulares (*extracellular traps - ETs*) por vários elementos efectores do sistema imune (neutrófilos, eosinófilos, mastócitos e macrófagos) é um mecanismo de resposta inata contra bactérias, fungos e protozoários que pode levar a morte celular, num mecanismo divergente da apoptose e da necrose. Neste mecanismo, estas redes são formadas por estruturas de DNA (e cromatina) de origem nuclear ou mitocondrial as quais se ligam a enzimas, péptidos antimicrobianos, proteases e histonas. A estimulação destes elementos do sistema imune conduz à desorganização do núcleo, descondensação da cromatina, com ruptura da membrana nuclear e combinação do conteúdo citoplasmático com a cromatina. Finalmente, a membrana celular torna-se permeável ao meio extracelular o que permite a libertação do conteúdo citoplasmático combinado com a cromatina, através de rede de armadilhas extracelulares (*etose*) (20, 21).

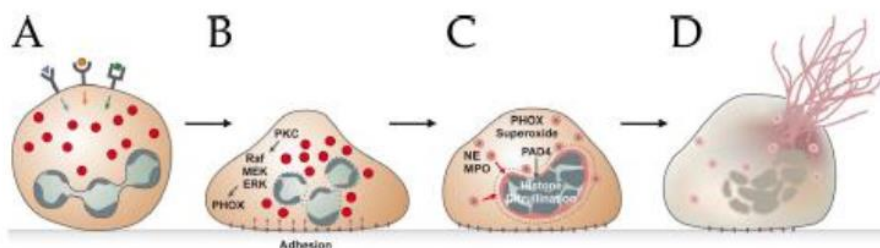


Figura 6 - Representação da via *NETosis*. A - Após a estimulação dos receptores; B- neutrófilos aderem ao substrato; C - e mobilizam grânulos contendo proteínas; D - a membrana celular é destabilizada e o conteúdo nuclear mistura-se com o citoplasmático, rompe-se a membrana celular e o conteúdo é extravasado em forma de rede. (21)

Estas armadilhas extracelulares têm a capacidade de aderir e formar agregados graças às interações hidrofóbicas estabelecidas. Têm também a capacidade de formar agregados com microorganismos e, assim, de evitar a disseminação destes últimos. Todavia, a sua actividade excessiva é contraproducente resultando em aumento da viscosidade das secreções, como acontece na OME (22).



Este mecanismo ocorre de forma complexa e ainda não é conhecido o modo como é regulado, pelo que se coloca a hipótese de a morte celular ocorrer por oxidação das fosfatases ou das cinases, ou ainda através de cascata de sinalização mediada por espécies reactivas de oxigénio. Além disso, a actividade microbiana também resulta da acção de proteínas e enzimas libertadas durante este processo (proteases, lisozima, péptidos, histonas) (20, 21). Os mecanismos que regulam o processo de citólise, de desgranulação dos eosinófilos e da participação da *ETosis* ainda não são claramente conhecidos, sendo necessária investigação complementar (19).

A primeira descrição deste processo ocorreu em 2004 e foi relativa a neutrófilos humanos, sendo mais tarde (2008) descrito em eosinófilos (20).

Os eosinófilos possuem a capacidade de libertar cromatina extracelular para formar *ETosis* (*extracellular trap cell death*) que conseguem capturar, através de células citolíticas extra-celulares (22). Ao desgranularem induzem um programa de morte celular já anteriormente descrito. Assim contribuem para a destruição das células alvo do processo inflamatório mediado pelos eosinófilos (19, 22). Foram identificados como estímulos desencadeantes: LPS, eotaxina, fator de complemento 5a (C5a) e bactérias Gram-negativa com activação prévia dos eosinófilos através da acção da IL-5 e IFN-gama (20, 21).

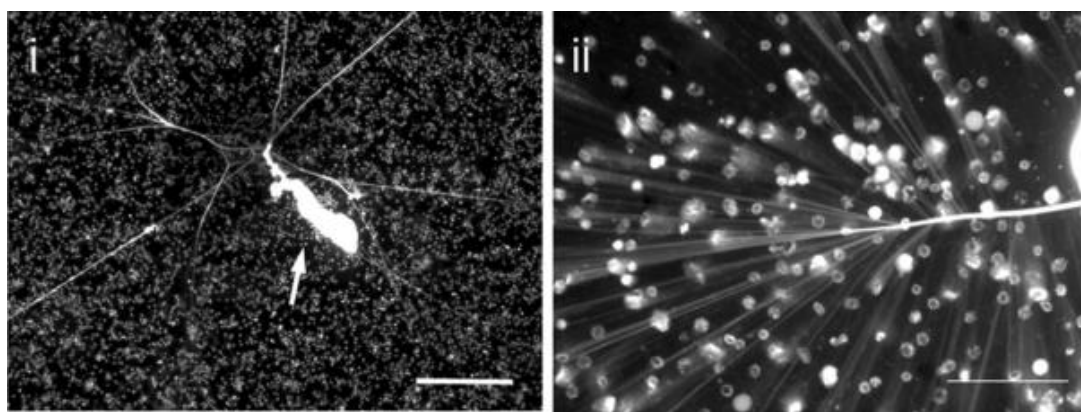


Figura 7 – Detecção de *ETosis* mediada por armadilha de DNA em condições de cultura. A imagem mostra em i (seta) armadilha de DNA e respectivo agregado, que em ii forma agregados de células mortas. (22)

Esta via de morte pode estar associada a várias doenças causadas por eosinófilos (20). Dado o seu papel na desgranulação dos eosinófilos, a morte celular por *ETosis* provavelmente desempenha um papel fundamental na patologia da OME (19).

A favor desta hipótese de morte celular por *ETosis* na OME surge: a presença de factores activadores locais com a acumulação de células inflamatórias na cavidade do ouvido médio, o processo de morte dos eosinófilos e neutrófilos ser considerado activo e o modo como decorre este processo contribuir significativamente para a viscosidade das secreções (15). Na OME, as secreções altamente viscosas contêm eosinófilos em *clusters*, com núcleo alongados ou com colecções de detritos nucleares e com os grânulos resultantes da desgranulação dos eosinófilos (15).

Este processo patológico de *ETosis* prolonga-se ao longo do tempo, mesmo quando já ocorreu lise completa dos eosinófilos, pelo que a actividade excessiva desta via de morte pode constituir um potencial alvo terapêutico (15, 22).

### **Diagnóstico Diferencial**

Tal como na OME, existem outras patologias que afetam o ouvido médio que se caracterizam por serem intratáveis/difícil tratamento e por serem consideradas entidades granulomatosas. Neste grupo incluem-se a otite média tuberculosa e síndromes com vasculite relacionada com ANCA's (anticorpos citoplasmáticos anti-neutrofílicos associados a vasculites). Além destas patologias, aquando do diagnóstico de OME é necessário excluir é a presença de Síndrome Hipereosinofílica. (1)

O Síndrome Hipereosinofílica é uma entidade que afecta vários órgãos (coração, sistema nervoso, pulmão, fígado) incluindo o ouvido médio, onde leva ao desenvolvimento de tecido de granulação com presença de eosinófilos. Está também associado a uma marcada eosinofilia no sangue e/ou nos tecidos (contagem periférica igual ou superior a  $1.5 \times 10^9/L$ ) por um período igual ou superior a 6 meses, sendo necessário excluir causas secundárias de eosinofilia, como por exemplo doença parasitária. (1)

No diagnóstico de OME é ainda necessário excluir a presença de vasculites sistémicas. Estas representam um grupo de patologias maioritariamente imunomediadas, caracterizadas pela presença de inflamação e, em alguns casos, necrose da parede dos vasos sanguíneos. Patologicamente podem ser organizadas de acordo com o tipo de reacção de hipersensibilidade de Gel e Coombs subjacente (tipo I: vasculite alérgica, tipo II: vasculite mediada por autoanticorpos; tipo III: vasculite mediada por

imunocomplexos; tipo IV: vasculite mediada por células T). Para clarificar o seu diagnóstico, em 1994 surgiram os critérios de classificação de Chapel-Hill. Estes baseiam-se no calibre dos vasos afectados e nos mecanismos imunopatológicos envolvidos, incluindo a associação com a presença de ANCAs. Assim é possível dividir as vasculites em três grandes grupos: as vasculites de grandes vasos, de vasos de médio calibre e as de pequenos vasos. Neste âmbito as patologias mais relevantes no diagnóstico diferencial de OME surgem no grupo das vasculites de pequenos vasos e são a granulomatose com poliangéite (previamente conhecida por granulomatose de Wegener) e, especialmente, a poliangéite granulomatosa eosinofílica (anteriormente designada com Síndrome de Churg-Strauss). (23, 24)

A granulomatose com poliangéite é uma doença rara com inflamação granulomatosa e necrosante que afecta a tríade aparelho respiratório superior (incluindo nariz e ouvido), pulmão e rim. Os primeiros sintomas sistémicos são habitualmente relativos ao aparelho respiratório superior, com otite media, obstrução nasal, epistáxis e rinorreia persistente. Na patologia sistémica, os sintomas otológicos podem estar presentes em cerca de 19 a 61% dos casos durante o curso clínico, ainda que seja menos comum aparecerem de forma localizada. (23, 24)

A perda auditiva sensorio-neural pode surgir durante o curso clínico destas patologias, ainda que raramente seja o sintoma inicial. Em muitos casos, essa perda auditiva resulta da acumulação de derrame no ouvido médio. O diagnóstico precoce e a instituição de terapêutica são importantes para a evitar. (23, 24)

Na poliangéite granulomatosa eosinofílica está presente uma inflamação eosinofílica necrosante com asma grave e outras manifestações de hipersensibilidade respiratória, nomeadamente a rinite e a sinusite acompanhadas por eosinofilia. Como manifestações sistémicas podem surgir: febre, emagrecimento, lesões cutâneas como púrpura ou nódulos granulomatosos, neuropatia periférica, pneumonia recorrente, envolvimento gastrointestinal com diarreia sanguinolenta, e também pode ocorrer infiltração miocárdica e a vasculite das artérias coronárias. Dentro dos critérios de diagnósticos (4 em 6) propostos pela Associação Americana de Reumatologia destaca-se: asma, eosinofilia superior a 10%, mononeuropatia múltipla ou polineuropatia atribuível a vasculite, infiltrados pulmonares não fixos, história de dor aguda ou crónica ao nível dos seios

perinasais ou opacificação radiográfica dos mesmos, eosinofilia extravascular em biópsia (incluindo de vasos). (23, 24)

Relativamente aos sintomas otológicos salienta-se a presença de otite média com efusão no ouvido médio devido a infiltrado eosinofílico e a perda auditiva. Estes sintomas são geralmente de difícil tratamento, mas respondem à administração de doses altas de corticóides e imunossuppressores. Estas características são muito semelhantes às encontradas na OME, inclusive a associação a asma brônquica. Porém o que as diferencia é a presença de vasculite patológica que afecta outros territórios e a documentação de Factor reumatóide, ANCA-p (anticorpos anti-citoplasma dos neutrófilos com padrão perinuclear) e anti-MPO (anti-mieloperoxidase), os quais são habitualmente positivos em 50-70% dos casos. (23, 24)

### **Otite Média Eosinofílica - Exames complementares de diagnóstico**

Os exames complementares de diagnóstico podem dar informações que complementam a avaliação da OME, todavia o diagnóstico radiológico é difícil, pois estão descritos poucos casos de estudo com realização de tomografia computadorizada (TC) e ressonância magnética (RM). Os achados encontrados na TC de doentes com OME podem ser confundidos com os que se encontram na otite media crónica, nomeadamente alterações heterogéneas nos tecidos moles no ouvido médio (resultantes da inflamação eosinofílica), na mastóide e, eventualmente, erosão dos ossículos. No entanto, a bilateralidade das lesões, a presença concomitante de rinossinusite crónica ou sinusite paranasal bilateral, que podem ser acompanhadas por Trompa de Eustáquio patente são a favor de OME (25).

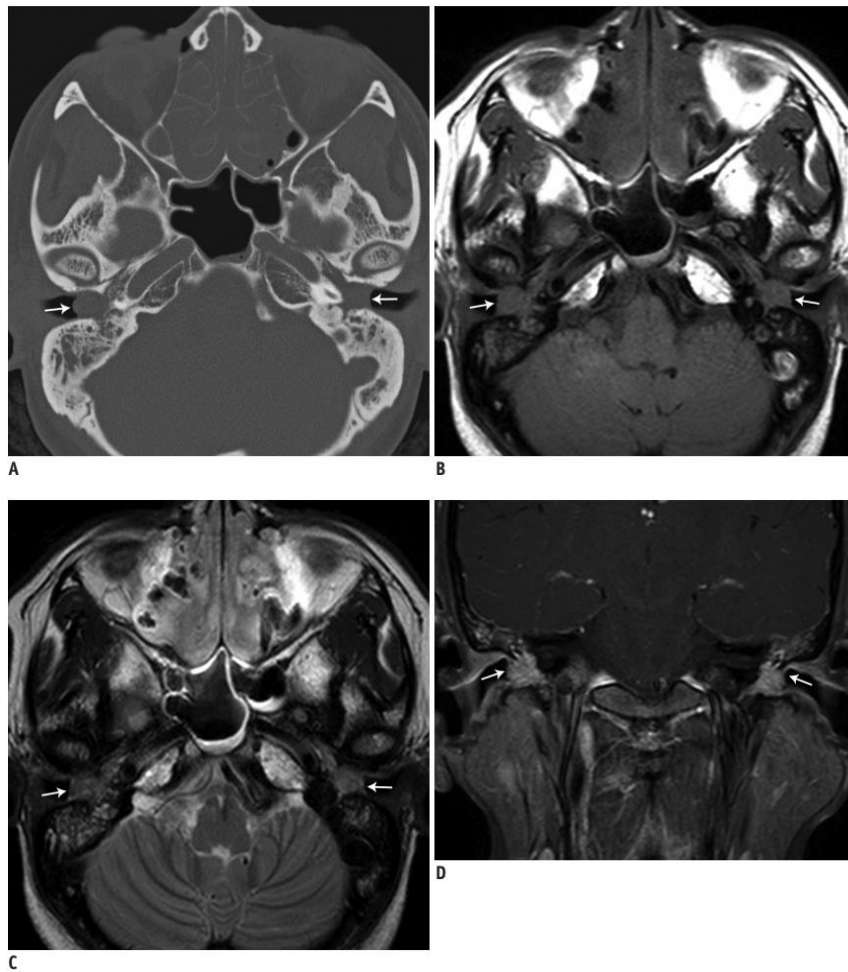


Figura 8 - As imagens de TC (A) mostram que ambas as cavidades do ouvido médio estão completamente preenchidas. Os seios etmoidais e esfenóideais também estão completamente obliterados pela mucosa que se encontra espessada. As imagens da RM (B, C e D) com sinal em ponderação T1 e T2 intermédia mostra lesões nos tecidos moles a preencher as cavidades do ouvido médio (setas), com aumento heterogêneo do sinal sugestivo da presença de tecido de granulação. (25)

### Otite Média Eosinofílica - Tratamento

O tratamento *standart* da OME baseia-se na administração tópica e sistêmica de corticóides, que pode ser combinada com anti-histamínicos ou antagonistas dos receptores dos leucotrienos. Nos casos mais graves, mesmo com uso de corticóides sistêmicos, é frequente haver recorrência desta doença. Um dos factores que pode contribuir para a recorrência da OME é a presença de otorreia purulenta devido a infecção bacteriana concomitante, sendo neste caso necessário adicionar antibioterapia tópica ou sistêmica (5). Podem também existir casos refractários ao tratamento. (1)

A otimização terapêutica da asma pode contribuir para melhorar a OME, tendo como base o princípio de uma via respiratória “comum”, uma “doença”. De facto, o ouvido médio encontra-se em continuidade com a Trompa de Eustáquio e, portanto, em comunicação com a nasofaringe (27). A asma tem uma forte relação com a OME, e é mesmo um dos critérios de diagnóstico desta última (1).

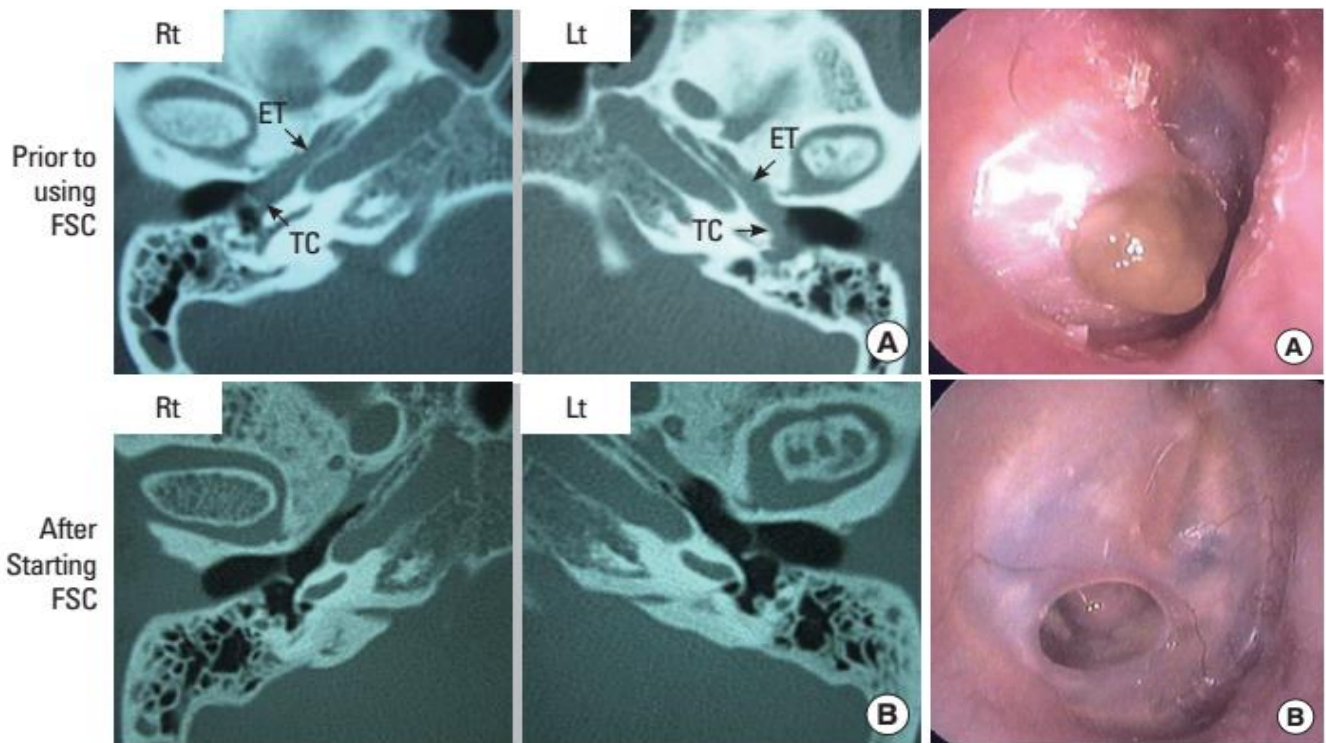


Figura 9 - Figuras mostram achados à observação da membrana timpânica e avaliação por TC. As imagens A são antes da otimização do tratamento da asma com presença de otorreia e derrame na trompa de Eustáquio. As imagens B pós otimização do tratamento mostram o seu desaparecimento. [Adaptado (27)]

A resposta de hipersensibilidade de tipo Th2 característica das patologias inflamatórias (eosinofílicas) das vias respiratórias, como a asma e a rinite alérgica, é um dos alvos terapêuticos dos corticóides. De relembrar que, apesar do mecanismo fisiopatológico ainda não ser totalmente conhecido, uma das hipóteses colocadas aponta para presença hipersensibilidade de tipo Th2 com envolvimento de citocinas como a IL-5. Verificou-se que com a administração de corticóides inalatórios na asma também existia uma melhoria das lesões que afectavam as vias aéreas superiores. De igual forma, a administração de corticóides inalatórios na rinite alérgica (patologia das vias aéreas superiores) melhorava a sintomatologia da patologia das vias aéreas inferiores. Estes são fármacos eficazes na

indução da remissão destas patologias pois suprimem/minimizam a inflamação eosinofílica. (27)

Assim, seguindo este princípio, nos doentes com OME e asma, a optimização da terapêutica (incluindo da dosagem usada) foi acompanhada por melhoria da função pulmonar e da eosinofilia, com consequente melhoria da sintomatologia da asma e, igualmente, da OME. A utilização de corticóides e beta-agonista de longa acção inalados contribui para a supressão da produção de citocinas, da resposta Th2, da expressão da Il-5 e, consequentemente, da produção de eosinófilos e respectiva activação e migração, suprimindo/minimizando a inflamação. Este efeito é exercido localmente nas vias aéreas, contudo não é de excluir a possibilidade de ocorrer absorção sistémica, o que pode explicar o efeito inibitório desta terapêutica na produção de eosinófilos e na sua migração para o sangue. Adicionalmente, o recurso a anti-histamínicos e antagonistas dos receptores dos leucotrienos podem contribuir para o alívio dos sintomas subjectivos. (27)

Outra estratégia terapêutica importante na OME é a remoção do derrame viscoso presente no ouvido médio, uma vez que quebra o ciclo de inflamação local (28). Contudo, a acentuada viscosidade do líquido dificulta a sua remoção. Uma opção para facilitar este processo passa pela aplicação de heparina sódica intratimpânica (5,000 IU/5ml diluída em solução salina), pois não só dissolve facilmente o derrame viscoso, como também tem um efeito inibitório na quimiotaxia e neutralização das proteínas resultantes da desgranulação dos eosinófilos. Deve ser seguida pela administração de corticóides tópicos, como a betametasona e a triamcinolona acetonida, sendo a última considerada mais eficaz no tratamento da OME. (28) A instilação local de uma solução tópica corticóide de triamcinolona acetonida no mesotímpano e na Trompa de Eustáquio demonstrou ser eficaz no tratamento desta patologia e na prevenção da deterioração da condução óssea (29). A aplicação deve ser realizada na superfície do ouvido médio. O tratamento pode ser realizado uma vez por mês ou mais, dependendo da gravidade da doença. Nas situações em que há uma significativa produção de tecido de granulação, perda auditiva significativa e eosinofilia muito elevada, esta estratégia deve ser complementada com a administração sistémica de corticóides (28).

A nível sistémico, a terapêutica anti-IgE, como o omalizumab, pode igualmente ser uma estratégia terapêutica no controlo da sintomatologia da doença e na prevenção da deterioração auditiva (30).

A utilização do omalizumab foi aprovada para o tratamento da asma moderada a grave, contribuindo para diminuir as suas exacerbações. Este anticorpo liga-se à IgE livre e impede a sua ligação aos receptores FcεR1 dos mastócitos, basófilos e eosinófilos. Consequentemente não ocorre a activação destas células. O omalizumab tem uma acção pró-apoptótica associada à diminuição da produção de um importante mediador, o factor estimulador de colónias de macrófagos granulócitos (GM-CSF), o qual está envolvido no desenvolvimento e sobrevivência dos eosinófilos, e na resposta alérgica tardia quando se observa a migração dos eosinófilos para as vias aéreas (30). Contribui também para a diminuição da eosinofilia sérica e local, ao diminuir a migração local dos eosinófilos. Tal foi constatado em biópsias do septo, brônquios e ouvido médio, sendo que esse achado também foi observado com a triamcinolona acetona. (30)

Complementarmente podem ainda ser úteis fármacos anti-histamínicos, antagonistas dos receptores dos leucotrienos, inibidores da fosfodiesterase (inibidor do subtipo PDE4), antagonista do receptor H1 e o ramatroban (antagonista dos receptores do tromboxano A2/prostaglandinas D2) (28).

Isoladamente os antagonistas dos receptores dos leucotrienos como o montelukast, também usados no tratamento da asma, melhoram alguma da sintomatologia na OME, mas não conseguiram suprimir a inflamação eosinofílica neste grupo de doentes. Isto apesar de se pensar que os leucotrienos desempenham um papel regulador sobre as citocinas produzidas pelos eosinófilos (31).

Quanto ao ramatroban, este trata-se de um antagonista dos receptores do tromboxano A2/prostaglandinas D2 ainda em estudo. Tem a capacidade de inibir a libertação de RANTES, suprimir a expressão de moléculas de adesão nas células endoteliais e limitar o processo de migração de eosinófilos e basófilos. Tem efeito na resposta de hipersensibilidade e pode ser útil no tratamento de patologias alérgicas, como a rinite alérgica e a asma. Pode ser uma alternativa terapêutica na OME, mas ainda são necessários mais estudos. (31)



No que diz respeito ao tratamento cirúrgico, este é útil para controlar a otorreia. Nos casos mais graves pode ser necessário realizar uma timpanomastoidectomia e timpanoplastia, em conjunto com a administração de corticoides sistémicos, no pré e no pós-operatório. Nos casos em que se aplica, pode ser realizada polipectomia com o objectivo de promover uma adequada ventilação do ouvido médio e da mastóide. (28)

Dado o impacto significativo e precoce da perda auditiva, afectando sobretudo a condução óssea mas também com alterações nas estruturas neurosensoriais, a utilização de implantes cocleares pode ser uma alternativa nos casos de OME com surdez. Porém, a presença de um processo inflamatório activo, com presença de tecido de granulação no ouvido médio, assim como otorreia viscosa podem dificultar este procedimento. Apesar disso, os doentes com OME e surdez neurosensorial profunda são considerados bons candidatos para colocação de implantes cocleares. Para o sucesso do procedimento é fundamental controlar a otorreia e o derrame no ouvido médio, sendo que para tal pode-se adicionalmente realizar uma miringoplastia. (32, 33)

Ainda não se sabe qual será o melhor *timing*, durante o curso da doença, para realizar estes procedimentos cirúrgicos. Assim como há pouca informação relativa ao impacto que a presença de derrame e da inflamação crónica tem nos *outcomes* pós-operatórios a longo prazo. Mas já foram relatados casos em que, 8 anos após a colocação dos implantes, se mantinha um bom reconhecimento da linguagem nos *scores* de avaliação, mas os resultados ainda são pouco substanciais. (32, 33)

No futuro poderão vir a surgir tratamentos genéticos e moleculares dirigidos ao mecanismo patológico de desenvolvimento da doença (15).

## Discussão e Conclusão

Actualmente, a inflamação eosinofílica é cada vez mais implicada no processo patológico de várias doenças que afectam diferentes sistemas e órgãos. É reconhecido o seu papel em doenças não só do foro hematológico, como também cardiovascular, digestivo e respiratório. Também no âmbito da otorrinolaringologia, os eosinófilos desempenham um papel importante, sendo a OME um exemplo disso. De facto, considerando a continuidade entre as vias respiratórias superiores e inferiores, a OME pode mesmo ser considerada o estágio final de um processo inflamatório crónico, no qual inicialmente começam por surgir patologias como a asma brônquica e, mais tarde, a OME.

A identificação de um novo processo de morte celular envolvendo eosinófilos (*ETosis*) parece ser promissora na compreensão da fisiopatologia da inflamação eosinofílica. Este processo já foi relacionado com a OME e manifesta-se clinicamente naquela que é a principal característica desta patologia, a viscosidade do derrame existente no ouvido médio.

O facto de ser uma entidade recentemente reconhecida, de grande parte da investigação estar a ser desenvolvida no Japão e não em países Ocidentais, e de ainda persistir algum desconhecimento relativo ao processo patológico subjacente, pode dificultar a identificação de doentes com OME. A presença de otorreia muito viscosa, a bilateralidade dos sintomas, a existência concomitante de asma e/ou pólipos nasais e dificuldade no tratamento com terapêutica convencional devem fazer suspeitar de OME.

O estabelecimento de critérios de diagnóstico foi um passo importante para o reconhecimento desta patologia, na medida em que se obteve uma ferramenta que facilita a identificação da OME, permitindo adequar o tratamento e o acompanhamento dos doentes.

No acompanhamento destes doentes, a avaliação auditiva é essencial pelo risco de deterioração que é, em certa medida imprevisível, uma vez que pode surgir súbita ou gradualmente no decurso da OME. Assim, deverão haver avaliações periódicas da audição, quer aquando do diagnóstico quer durante o subsequente acompanhamento destes doentes. Contudo, ainda não existe informação quanto a periodicidade aconselhada.

Outro aspecto relevante é adequação da terapêutica, com a utilização de corticóides, tópicos e sistémicos, que actuam na supressão da resposta inflamatória. Adicionalmente, a optimização do tratamento da asma contribui para a melhoria dos sintomas, o que mais uma vez mostra a relação próxima entre estas duas entidades, a asma e a OME. De facto, a existência de doentes com OME e sem asma é uma excepção neste contexto.

A utilização de fármacos com o omalizumab (anti-IgE) com resultados positivos na OME, reforça a necessidade de desenvolver mais investigação para encontrar terapêutica direccionada aos mecanismos fisiopatológicos, a qual também poderá ser útil noutras entidades que tenham na sua base a presença de inflamação eosinofílica crónica.

## **Agradecimentos**

Os meus mais sinceros agradecimentos ao Prof. Dr. Óscar Proença Dias, ao Dr. Marco Simão e ao restante corpo docente e assistentes convidados da Clínica Universitária de ORL.

À minha família, especialmente aos meus pais, agradeço todo o apoio e compreensão ao longos dos anos, particularmente nesta fase final do curso. A eles dedico este trabalho.

## Bibliografia

- 1 – Iino, Y., Tomioka-Matsutani, S., Matsubara, A., Nakagawa, T., Nonaka, M. (2011) Diagnostic criteria of eosinophilic otitis media, a newly recognized middle ear disease. *Auris Nasus Larynx* 38: 456–461.
- 2 – Nagamine, H., Iino, Y., Kojima, C., Miyazawa, T., Iida, T. (2002) Clinical characteristics of so called eosinophilic otitis media. *Auris Nasus Larynx* 29: 19–28.
- 3 - Ishitoya J, Sakuma Y. (2011) Eosinophilic chronic rhinosinusitis and eosinophilic otitis media. *Arerugi* 60:535-45.
- 4 - Suzuki, H. Matsutani, S. Kawase, T., Iino, Y., Kawauchi, H., Gyo, K., Kurono, Y., Schinkawa, H., Takahashi, S., Fukuda, S., Moriyama, H., Yamashita, T., Kobayashi, T. (2004) Epidemiologic surveillance of “eosinophilic otitis media” in Japan. *Otology Japan* 14: 14112- 117.
- 5- Kanazawa. H., Yoshida, N., Yamamoto, H., Hara, M., Hasegawa, M., Matsuzawa, S., Shinnabe, A., Iino, Y. (2014) Risk factors associated with severity of eosinophilic otitis media. *Auris Nasus Larynx* 41: 513–517
- 6 - Kanazawa. H., Yoshida, N., Iino, Y. Iino, Y. (2015) New Insights into Eosinophilic Otitis Media. *Current Allergy and Asthma Reports* 15: 76.
- 7 – Kanazawa, H., Yoshida, N., Hara, M., Hasegawa, M., Matsuzawa, S., Shinnabe, A., Iino, Y. (2013). Risk factors for eosinophilic otitis media in patients with eosinophilic chronic rhinosinusitis. *Journal of International Advanced Otology* 9:353–8.
- 8 – Nishizawa, H., Matsubara, A., Nakagawa, T., Ohta, N., Izuhara, K., Shirasaki, T., Abe, T. Takeda, I., Shinkawa, H. (2012) The role of periostin in eosinophilic otitis media. *Oto-Laryngologica*, 132: 838–844
- 9 – Iino, Y., Usubuchi, H., Kodama, K., Takizawa, K., Kanawaza, T., Ohta, Y. (2008) Bone Conduction Hearing Level in Patients With Eosinophilic Otitis Media Associated With Bronchial Asthma. *Otology and Neurotology* 29 (7): 949 – 52.
- 10 - Iino, Y., Usubuchi, H., Kodama, K., Takizawa, H., Kanawaza, K., Kanawaza, T., Ohta, Y. (2010) Eosinophilic Inflammation in the Middle Ear Induces Deterioration of

Bone-Conduction Hearing Level in Patients With Eosinophilic Otitis Media. *Otology and neurotology* 31(1): 100 – 104.

11- Iino, Y., Kakizaki, K., Saruya, S., Katano, H., Komiya, T., Koderu, K., Ohta, K. (2006) Eustachian Tube Function in Patients With Eosinophilic Otitis Media Associated With Bronchial Asthma Evaluated by Sonotubometry. *Archives Otolaryngology Head and Neck Surgery* 132: 1109-1114.

12 - Okano, M., Kariya, S., Ohta, N., Imoto, Y., Fujieda, S., Nishizaki, K. (2015) Association and management of eosinophilic inflammation in upper and lower airways. *Allergology International* 64: 131-138.

13 – Uchimizu, H., Matsuwaki, Y., Kato, M., Otori, N., Kojima, H. (2015) Eosinophil-derived neurotoxin, elastase, and cytokine profile in effusion from otitis media. *Allergology International* 64: S18 - S23.

14 - Uchimizu, H., Matsuwaki, Y., Kato, M., Moriyama, H. (2009) Evaluation Of Cytokine Profiles In The Secretion From Eosinophilic Otitis Media. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* 123 (2) S2-52.

15- Ueki, S., Ohta, N., Takeda, M., Konno, Y., Hirokawa, M. (2017) Eosinophilic Otitis Media: the Aftermath of Eosinophil Extracellular Trap Cell Death. *Current Allergy and Asthma Reports* 17 (5): 33.

16 - Iino, Y. (2010) Role of IgE in Eosinophilic Otitis Media. *Allergology International* 59: 233-238.

17 - Kaplan, A.P. (2001) Chemokines, chemokine receptors and allergy, *International Archives of Allergy Immunology* 124: 423-431.)

18 – Ohta, N., Ishida, A., Kurakami, K., Suzuki, Y., Kakehata, S., Ono, J., Ikeda, H., Okubo, K., Izuhara, K. (2014) Expressions and roles of Periostin in Otolaryngological Diseases. *Allergology International* 63:171-180.

19 – Ohta, N., Ueki, S., Konno, Y., Hirokawa, M., Kubota, T., Tomioka-Matsutani, S., Suzuki, T., Ishida, Y., Kawano, T., Miyasaka, T., Takahashi, T., Suzuki, T., Ohno, I.,

- Takehata, S., Fujieda, S. (2017) ETosis-derived DNA trap production in middle ear effusion is a common feature of eosinophilic otitis media. *Allergology International* 1-3.
- 20 – Brinkmann, V., Reichard, U., Goosmann, C., Fauler, B., Uhlemann Y., Weiss, D.S., Weinrauch, Y., Zychlinsky, A. (2004) Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science*. 303:1532–1535.
- 21 – Guimarães – Costa, A. B., Nascimento, M. T. C. Wardini, A. B., Pinto-da-Silva, L. H. Saraiva, E. M. (2012) ETosis: A microbicidal mechanism beyond cell death. *Journal of Parasitology Research* 2012: 929743.
- 22 - Ueki, S., Konno, Y., Takeda, M., Moritoki, Y., Hirokawa, M., Matsuwaki, Y., Honda, K., Ohta, N., Yamamoto, S., Takagi, Y., Wada, A., Weller, P., (2015) Eosinophil extracellular trap cell death-derived DNA traps: their presence in secretions and functional attributes. *Journal of Allergy Clinical Immunology* 137: 1.
- 23 – Yoshida, N., Iino, Y. (2014) Pathogenesis and Diagnosis of Otitis Media with ANCA-Associated Vasculitis. *Allergology International* 63:523-532
- 24 – Saka, N., Seo, T., Shimano, K., Kashiba, K., Mori, T., Sakagami, M. (2009) A case of Churg–Strauss syndrome with refractory otitis media. *Auris Nasus Larynx* 36: 79–81.
- 25 - Chung, W. J., Lee, J. H., Lim, H. K., Yoon, T. H., Cho, K. J., Baek, J. H. (2012) Eosinophilic Otitis Media: CT and MRI Findings and Literature Review. *Korean Journal of Radiology* 13(3):363-367.
- 26 - Seo, Y., Nonaka, M., Yamamura, Y., Pawankar, R., Tagaya, E. (2018) Optimal control of asthma improved eosinophilic otitis media. *Asia Pac Allergy*. 8(1): e5
- 27 – Tanaka, Y., Nonaka, M., Yamamura, Y., Tagaya, E., Pawankar, R., Yoshihara, T. (2013) Improvement of Eosinophilic Otitis Media by Optimized Asthma Treatment. *Allergy Asthma Immunol Res* ;5(3):175-178.
- 28 – Matsubara, A., Takahata, J., Miura, T., Kudo, N. (2018) Treatment for Eosinophilic Otitis Media. *Journal of Clinical Cell Immunology*, 9:1
- 29 – Iino, Y., Nagamine, H., Kakizaki, K., Komiya, T., Katano, H., Saruya, S., Kodera, K. (2006) Effectiveness of instillation of triamcinolone acetonide into the middle ear for

eosinophilic otitis media associated with bronchial asthma). *Annals of Allergy, Asthma and Immunology* 97 (6): 761-766.

30 – Iino, Y., Hara, M., Hasegawa, M., Matsuzawa, S., Shinnabe, A., Kanawaza, H., Yoshida, N. (2014) Effect of omalizumab on biomarkers in middle ear effusion in patients with eosinophilic otitis media. *Acta Oto-Laryngologica* 134: 366–372.

31 – Wada, T., Uemaetomari, I., Murashita, H., Tobita, T., Tsuji, S., Tabuchi, K., Okubo, H., Hara, A. (2006) Successful treatment of eosinophilic otitis media using ramatroban: Report of two cases. *Auris Nasus Larynx* 33(4): 455-60.

32- Kojima, H., Sakurai, Y., Rikitake, M., Tanaka, Y., Kawano, A., Moriyama, H. (2010) Cochlear implantation in patients with chronic otitis media. *Auris Nasus Larynx* 37(4) 415-21.

33 – Iwasaki, S., Nagura, M., Mizuta, K. (2006) Cochlear Implantation in Patients with Eosinophilic Otitis Media. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology and Head and Neck* 263 (4): 365-369.